

## **Opponensi vélemény Dr. Szabó Dóra „Béta-laktám rezisztens Gram-negatív baktériumok vizsgálata” című akadémiai doktori értekezéséről**

A doktori értekezés opponensi felkérésének előfeltétele, hogy az megfelejen az MTA illetékes osztálya által megszabott szakmai minőségi és formai feltételeknek. Mivel jelen értekezés opponensi feladatainak ellátására felkértek, az szükségszerűen a bizottsági előértékelésen átesett, vagyis az adott tudományterület számszerűen megszabott követelményeinek megfelel. Mindezeket túl legyen szabad az opponensnek is kitérni a jelölt doktori habitusára. A minimum feltételként megkívánt 60 impakt faktornak és 250 független citációnak a disszertáns több, mint másfélszeresét teljesítette. Dr. Szabó Dóra szuverén kutatói egyéniségét bizonyítja az, hogy magas impaktszámú közleményeinek jelentős részében első, vagy utolsó szerző. Rozgonyi professzor doktori képzés szempontjából is rendkívül eredményes munkacsoportjához csatlakozva már kutatói pályájának kezdetén idegennyelvű folyóiratokban publikált, majd külföldi ösztöndíjak lehetőségeit is gyümölcsöztetve az antibiotikum rezisztencia mechanizmusok kutatásának nemzetközi mércével mérve is élvonalbeli kutatójává vált. Tapasztalatait jól kamatoztatva fiatal munkatársak szakmai fejlődését is biztosítva szolgáltatott meghatározó új ismereteket a Gram-negatív baktériumok hazai rezisztencia helyzetéről, járványtani jellemzőiről és a háttérben meghúzódó mechanizmusokról. A saját közlemények jegyzéke jól mutatja, hogy a Ph.D. fokozat megszerzése óta a jelölt folyamatos, magas színvonalú kutatómunkát végez.

A dolgozat és a tézisfüzet felépítését tekintve a hagyományos fejezetekre osztást követi, az előírt követelményeknek mindenben megfelel. Bizonyos számú betűhibát találtam a kéziratban, részletezésükre nem térek ki. Néhány ábránál valószínűleg az eredetileg angol szöveg magyarra cserélése során maradtak ott az angol szöveg részletei, más esetekben (116. és 117. oldalak) a bal oldalon találhatók hibás függőleges betűsorok. A bevezetés jó áttekintést ad a tudományterület aktuális állásáról. A célkitűzések világosak, előremutatóak. Az anyagok és módszerek tárgyalása a disszertációk esetében általánosan megszokott terjedelemben történik, a részletesebb tájékozódást a megadott irodalmi utalások segítik. Talán a statisztikai elemzések egy címszó alatt történő összefoglalása könnyebb áttekintést tett volna lehetővé. Az eredmények fejezet elemzése az adatgadagság és komplikált összefüggések miatt rendkívüli koncentrációt igényel, ugyanakkor intellektuális élményt is jelent. A megbeszélés fejezet szakirodalmi kontextusukban tömören és célrátörően tárgyalja az eredményeket.

**Az új eredményeket** a szerző 6 fő pontban foglalja össze, mindegyik fő pont több figyelemre méltó részeredményt tartalmaz. Ezeket **novumként elfogadom**, közülük **az alábbiakat emelem ki**:

1. Részletes járványtani adatokkal szolgál az ESBL termelő *Klebsiella pneumoniae* törzsek hazai elterjedésére vonatkozóan. Az adatok alapján prognosztikai következtetéseket von le és megelőzési ajánlást is tesz.
2. Gyors és költséghatékony új eljárást dolgozott ki az ESBL enzimek fenotípusos és genotípusos detektálására és elemzésére.
3. Új ESBL enzimeket ír le és jellemez. Bemutatja az új enzimek megjelenésének hátterében húzódó molekuláris mechanizmusokat.
4. Hazánkban elsőként számol be plazmid által kódolt kinolon rezisztenciáról ESBL termelő bélbaktériumok esetében.
5. MBL termelést bélbaktériumokban hazánkban elsőként, és *Klebsiella oxytoca* esetében a világon elsőként mutatott ki.
6. Állatkísérletes modellekben felmérte különböző antibiotikumok és egy antibakteriális hatású peptid várható hatásosságát ESBL termelő törzsekkel szemben.

**Az értekezéssel kapcsolatos kérdéseim és észrevételeim az alábbiak:**

1. A rövidítések jegyzéke a DNA rövidítés felodásaként a „deoxynucleid acid” formát adja meg. A Google adatbázisban erre a kifejezésre csak egy találatot kaptam, ami a szerző doktori értekezésére vonatkozik. Valóban használatos ez a kifejezés?
2. A 18. oldalon leírtak szerint a penicillin a Gram-negatív szervezetekre hatástalan. Ezt pontosítani kellene, mivel a *Neisseria meningitidis*, a *Pasteurella multocida* és számos spirál alakú baktérium jól reagál erre a szerre.

3. A 24. oldalon ugyanarra a taxonra vonatkozóan a *Morganella morganii* és *Proteus morganii* megnevezés is szerepel. A jelenlegi nevezéktan szerint az előbbi megnevezés érvényes.
4. A 26. oldalon a *K. oxytoca*-ra történő hivatkozás esetében törzs helyett a species megnevezés lenne helyes.
5. A 31., 48., 56. és 120. oldalon egyaránt letalitásról van szó. A 31., 56. és 120. oldalon a disszertáns a mortalitás szót használja. Bár a két fogalom használata olyan jeles folyóiratokban is keveredik, mint az Infection and Immunity, egy adott baktériumfaj által okozott fertőzésben elhunytak arányának meghatározására a letalitás fogalma alkalmazandó.
6. A 3. táblázatban a termék méretegysége nincs megadva. Bár az egység nyilvánvaló, ennek ellenére a tudományos precízitás megkívánta volna annak megadását.
7. A 3. és 4. ábrákon az ESBL termelő *K. pneumoniae* törzsek havi megoszlása nem teljesen fedi egymást. A két ábra adatai nem ugyanazokra az izolátumokra vonatkoznak?
8. A 61. oldalon az „izolátumok izoelektromos pontját” helyett az „ESBL enzimek izoelektromos pontját” lenne a pontos kifejezés.
9. A 10. táblázatban és a 9. ábrán szereplő ESBL termelő *E. cloacae* törzsek száma és jelölése sem egyezik meg teljesen. Ez megnehezíti az egyes törzsek plazmid profiljainak azonosítását.
10. A 7.2.2.4. fejezet címe nem pontos, mivel az izoelektromos fókuszálás nem a baktériumtörzsre, hanem annak béta-laktamáz enzimeire vonatkozik.
11. A 7.3.1.1. fejezet címe sem pontos, mivel az érzékenység valójában nem a TEM-131 enzimre, hanem az azt termelő törzsekre vonatkozik.
12. A 81. oldal utolsó bekezdésében a  $k_{cat}/K_M$  érték változás szignifikanciája alátámasztható statisztikai módszerrel?
13. A kinolon rezisztencia plazmid átvitele önmagában nem okozott jelentős változást a kinolon érzékenységben, amennyiben a recipiens a laboratóriumi *E. coli* J53 törzs volt. Érdemes lenne azt vizsgálni, hogy egy eredetileg kinolon érzékeny *K. pneumoniae* törzs MIC értéke hogyan változna

a rezisztencia plazmid átvitele után. Rendelkezik-e azon kiegészítő mechanizmusokkal, amelyek a rezisztencia magasabb fokú kifejeződését eredményezik? Van-e adat arra vonatkozóan, hogy miként alakul a vad törzs kinolon MIC értéke a kinolon rezisztencia plazmid elvesztése után.

14. Előfordul-e az ESBL és kinolon rezisztencia plazmidok együttes transzfere?

15. A 95. oldalon tárgyalt VIM gént hordozó plazmidok mérete bizonyára nem 90 bp, hanem 90 kb.

16. Az *in vivo* kísérletekben milyen nemű egereket használtak?

17. A 106. és 111. oldalakon az *in vitro* ölési görbék leírása az állatkísérletek között szerepel. Mi indokolta ezt?

18. Az egerek véréből történt baktérium koncentráció meghatározások esetén az „Antibiotikum kezelés időtartama” megjelölés szerepel a megfelelő ábrán. Ennek értelmezését a dózisok és időpontok meghadása, vagy az Antimicrobial Agents and Chemotherapy (2001), 45: 1287- 1291. közleményre való hivatkozás elősegítette volna.

19. Hogyan alakult a cefepimmal kezelt egerek vérében a *K. pneumoniae* csíraszám? A 6. és 12. óra közötti emelkedés szignifikánsnak tekinthető-e? Mi történt a 12. óra utáni megfigyelési periódusban?

20. A 108. oldalon tárgyalt túlélési adatok szerint a fertőzött és antibiotikummal kezelt csoportokban magasabb volt a 24 órás elhullás (6/15 és 7/15), mint a fertőzött kezeletlen csoportban (4/15). (A cefepimmal kezelt egerekre vonatkozóan nincs megadva az elhullási adat.) Ugyanakkor a 24. ábra és a statisztikai elemzés a szerek hatásosságát támasztotta alá. Ez az opponens számára az adatok összességét nehezen értelmezhetővé tette. Az ellentmondást a tézisfüzetben, illetve a szerző és munkatársai eredeti közleményében szereplő adat oldotta fel. Ezek szerint a fertőzött kezeletlen csoportban az elhullás nem 4/15, hanem 14/15 volt.

21. Az A3-APO peptiddel végzett ismételt toxicitási vizsgálatoknál legmagasabb dózisként a 114. oldalon 40 mg/kg és 50 mg/kg is szerepel. Melyik a valóban alkalmazott dózis?

22. Az ESBL termelő *E. coli*-val fertőzött és A3-APO peptiddel kezelt egerek vérében a csíraszám a 29. ábra szerint már az első A3-APO dózis adása után csökkent, a második dózis adása után pedig a kimutathatósági határ alá esett. Bár a kezelés befejezése után csíraszám emelkedés következett be, ez 4 és 12 órával a befejezés után is több kitevővel az LD<sub>50</sub> érték alatt volt (Némi bizonytalanságot okoz, hogy az ábrán CFU/ml, a szöveges elemzésben CFU/g szerepel). Mi magyarázza a 28. ábra szerint a peptiddel kezelt csoportban az ekkor bekövetkezett elhullást ha az imipenemmel kezelt csoportban a csíraszámok alakulása hasonló volt, de ezen időszakban egyetlen egér sem pusztult el a csoportban?

23. A szerző javasolja az éretlen újszülöttek édesanyjainak rutinszerű bélflóra szűrését. Az értekezésben szereplő járvány alkalmával történt-e anyai széklethizsgálat? Ha igen, annak során sikerült-e a járványt okozó ESBL termelő *K. pneumoniae* törzset izolálni?

**Összefoglalva** a fentieket megállapítom, hogy egy igen magas színvonalú, a szerző saját munkáján alapuló és hiteles adatokat tartalmazó disszertációt volt alkalmam bírálni. A kérdések és megjegyzések csak bizonyos pontok precízebb megfogalmazására és bővebb kifejtésére irányulnak. A dolgozat mindenben megfelel a tudományok doktora fokozat elnyeréséhez előírt feltételeknek. A disszertáció nyilvános vitára kitűzését és a Tudományok Doktora fokozat odaítélését a leghatározottabb szakmai meggyőződéssel ajánlom.

Pécs, 2012. március 16.

Dr. Emőd Levente  
az MTA doktora

Szalay Dezső  
Szakreferens Úrnak

Pécs, 2012. március 16.

Magyar Tudományos Akadémia  
Doktori Tanácsa  
1051 Budapest V.  
Nádor u.7.

Tisztelt Szakreferens Úr!

Mellékelten küldöm Dr. Szabó Dóra akadémia doktori értekezéséről készített opponensi véleményemet és a szükséges mellékleteket.

Tisztelettel:

Dr. Emőd Levente